

张明,冯雪丽,时文歆,等.腐殖酸对好氧颗粒污泥系统的调控机理研究——以石墨烯和氧化石墨烯产生的毒性影响为例[J].中国环境科学,2025,45(4):1995-2007.

Zhang M, Feng X L, Shi W X, et al. The regulatory mechanism of humic acid on aerobic granular sludge under prolonged exposure to graphene and oxide grapheme [J]. China Environmental Science, 2025,45(4):1995-2007.

腐殖酸对好氧颗粒污泥系统的调控机理研究

——以石墨烯和氧化石墨烯产生的毒性影响为例

张明,冯雪丽,时文歆,张冰* (重庆大学环境与生态学院,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400044)

摘要: 以受纳米材料石墨烯(G)和氧化石墨烯(GO)长期胁迫作用下的好氧颗粒污泥系统(AGS)为研究对象,探究投加适量腐殖酸(HA)对 AGS 理化特性和污染物处理性能的缓解作用及其机理.研究表明:经过适量浓度的 HA (10.0mg/L)处理后,实验组 R2 (1.0mg/L G)和 R3 (1.0mg/L GO)中 AGS 的理化特性与系统的处理性能均得到了明显改善.其中,在整个实验期间(第 0~75d),R3 系统内的 AGS 平均粒径由 1224.1 μm 增加至 1407.5 μm ,R2 系统内的 AGS 平均粒径由 1313.0 μm 增加至 1461.3 μm . AGS 理化特性的提升使得 R2 和 R3 系统内总氮去除率分别上升了 2.3%和 7.6%.通过投加 HA,R2 和 R3 系统内观察到活性氧含量、乳酸脱氢酶活性、过氧化氢酶活性和超氧化物歧化酶活性均出现明显降低,这是由于 HA 可以与细胞内积累的活性氧相结合,进而降低 G 和 GO 胁迫下生物体内产生的氧化应激水平.此外,HA 的引入减少了 AGS 中胞外聚合物(EPS)的过量分泌,并降低了 EPS 中芳香类蛋白质和酪氨酸类物质的含量,使得 AGS 呈现出更加致密紧凑的颗粒结构.最后,分析 G 和 GO 在 HA 投加前后 Zeta 电位的变化情况,结果表明投加适量 HA 提高了 G 和 GO 的初始电势值,增强了 G/GO 与微生物之间的排斥力作用,减少了微生物与 G/GO 之间的直接接触,进而有效缓解了 G 和 GO 对 AGS 微生物产生的毒性影响.

关键词: 好氧颗粒污泥; 石墨烯; 氧化石墨烯; 胞外聚合物; 氧化应激反应; Zeta 电位

中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2025)04-1995-13

The regulatory mechanism of humic acid on aerobic granular sludge under prolonged exposure to graphene and oxide grapheme. ZHANG Ming, FENG Xue-li, SHI Wen-xin, ZHANG Bing* (Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400044, China). *China Environmental Science*, 2025,45(4): 1995-2007

Abstract: This study aimed to investigate the mitigating effect and regulatory mechanism of humic acid (HA) on the physicochemical properties and pollutant treatment performance of aerobic granular sludge (AGS) under prolonged stress induced by graphene (G) and oxide graphene (GO). The results demonstrated that the optimal dosage of HA (10mg/L) significantly enhanced the physicochemical characteristics of AGS, and improved the pollutant treatment performance of the AGS reactor (R2 (1.0mg/L G) and R3 (1.0mg/L GO)). At the 75th day, in R3, there was an obviously increase in average particle size of AGS from 1224.1 μm to 1407.5 μm , while in R2 it increased from 1313.0 μm to 1461.3 μm . Simultaneously, the enhancement of AGS physicochemical properties led to a respective increase of 2.3% and 7.6% in TN removal efficiency for R2 and R3. The introduction of HA resulted in a significant reduction in the levels of reactive oxygen species (ROS), lactate dehydrogenase activity, catalase activity, and superoxide dismutase activity in R2 and R3. This suggested that HA can effectively bind with accumulated ROS within cells to further mitigate oxidative stress levels induced by G and GO. The addition of HA also effectively alleviated the excessive secretion of extracellular polymeric substances (EPS) in AGS, resulting in a decrease in the content of aromatic proteins and tyrosine-like substances within EPS. Consequently, this led to a more compact and denser AGS particle structure in R2 and R3. Ultimately, the changes in Zeta potential of G and GO (before and after the addition of HA) indicate that the incorporation of HA can enhance the initial potential values of G and GO, thereby augmenting the repulsive effect between G/GO and microorganisms, reducing direct contact between microorganisms and G/GO, thus effectively mitigating the toxic effects exerted by G and GO on microorganisms.

Key words: aerobic granular sludge (AGS); graphene (G); oxide graphene (GO); extracellular polymeric substances (EPS); oxidative stress response; Zeta potential

好氧颗粒污泥(AGS)是在选择压的驱动作用下,由污泥微生物不断黏附、凝聚而形成的颗粒状污泥聚集体^[1].与絮体污泥相比,AGS 具有沉降性能好、抗冲击负荷能力强以及污染物去除效率高等优势

特征^[2].AGS 独特的分层结构使颗粒中不同的功能

收稿日期: 2024-09-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52370029,52270025)

* 责任作者, 副教授, zhangbing@cqu.edu.cn

菌群随着颗粒内部溶解氧梯度呈现出不同的生态位分布,这使得 AGS 即使只在一个反应器中也可以实现同步硝化反硝化过程^[3].同时,AGS 中存在大量的胞外聚合物(EPS),这些物质将微生物紧密黏合,从而增强了 AGS 在运行过程中的稳定性,使得 AGS 反应器具有优异的生物质保留率^[4].这些特点显著提升了污水生物处理技术的经济效益.因此,AGS 技术被认为是“21 世纪最有发展前景的污水生物处理技术之一”.

石墨烯(G)是一种由碳原子构成的二维同素异形体的纳米材料^[5].氧化石墨烯(GO),作为石墨烯的一种衍生物,是由排列成六边形网络的单层碳原子构成的碳纳米材料^[6].G 和 GO 具有优良的导电性和机械强度,且成本低廉易于加工.因此,它们在半导体制备、环境修复治理和生物医学等各个领域的应用不断增加^[7].然而,随着 G 和 GO 的广泛应用,它们将会不可避免地被释放到水体环境中,并最终伴随污水进入污水处理厂^[8].通过对美国旧金山地区污水处理厂中纳米材料浓度的调查^[9],结果显示其检测到的纳米材料主要由 G 和 GO 组成,且出水浓度达到了 0.2~0.5 $\mu\text{g/L}$.

在 AGS 技术推广和应用的过程中,G 和 GO 会进入以 AGS 技术为核心的污水处理厂,从而对 AGS 的理化特性和系统处理性能产生一定影响.据研究报告^[10],在浓度为 95.0mg/L 的 GO 持续暴露 7d 后,AGS 反应器中化学需氧量(COD)的去除率由 93.5% 降至 73.7%,氨氮(NH_4^+-N)的去除率由 99.5% 降至 81.9%.另有研究发现,G 和 GO 会对 AGS 微生物产生慢性毒性,并且相比于 G,GO 会对微生物产生更严重的毒害作用^[11].具体而言,在持续暴露于 1.0mg/L 的 G 和 GO 下,AGS 微生物氧化应激水平显著增加.相较于对照组,投加 G 和 GO 的反应器中活性氧(ROS)含量分别上升了 48.9% 和 66.2%,导致 AGS 微生物的细胞膜受到严重损害,进而影响了亚硝酸盐还原酶和硝酸盐还原酶的活性,使得总氮(TN)去除率明显降低⁰.然而,目前的研究几乎只关注于 G 和 GO 对 AGS 系统产生的负面影响,而关于采用何种调控方案缓解 G 和 GO 对 AGS 系统运行过程中产生的不利影响尚未报道.

腐殖酸(HA)是一种天然存在的有机大分子化合物,广泛分布于土壤、煤炭以及自然水体中^[12].HA

的主要元素组成包括碳、氢、氧,还可能含有氮和硫等元素^[13].由于其含有多种官能团,如羧基、酚基和氨基等^[14],HA 具有较高的反应活性,能够吸附在纳米材料表面,改变其表面特性和分散性,从而阻止纳米材料与微生物之间的直接接触^[15].同时,HA 作为一种抗氧化剂可以与微生物体内积累的 ROS 相结合^[16],有助于缓解其对微生物产生的毒性影响^[17].然而,HA 是否可以缓解 G 和 GO 对 AGS 微生物产生的毒性影响进而恢复 AGS 的理化性质和系统处理效能尚需进一步探究.

因此,本研究首先采取批次实验确定 HA 的最佳用量,在此基础上,分析最适浓度 HA 投加前后,受 G 和 GO 长期胁迫作用的 AGS 的理化特性(包括沉降性能、颗粒粒径以及颗粒形态变化)、污染物去除效能、AGS 微生物氧化应激水平和 EPS 含量与组成等方面的变化情况,以及 HA 投加前后,G 和 GO 表面 Zeta 电位的变化规律,揭示了 HA 对该系统的缓解机理.研究结果可为 AGS 污水处理技术的实际应用提供进一步的理论指导.

1 材料与方法

1.1 实验装置与运行条件

本实验装置主体为三组规格完全相同的间歇式反应器(图 1),分别标记为对照组 R1 (未投加 G 或 GO)、实验组 R2 (持续投加 1.0mg/L G)和实验组 R3 (持续投加 1.0mg/L GO).三组反应器的接种污泥均取自当地污水处理厂曝气池中的活性污泥,其平均粒径为 79.3 μm ,污泥容积指数(SVI₃₀)为 73.4mL/g,反应器中接种的污泥混合液悬浮固体浓度(MLSS)均为 3.95g/L.在本次实验正式开展前,三组反应器均已经过 85d 的持续运行.至第 85d (即本研究的第 0d),相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 的 AGS 理化特性和 TN 去除率显著下降.具体而言,相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 的颗粒粒径和 TN 去除率分别下降了 175.0 μm 、264.8 μm 和 6.6%、17.8% (图 3(b),图 5(a-c),第 0d 数据).因此,为了探究投加 HA 缓解 G 和 GO 长期胁迫对 AGS 不利影响的作用效果,在确定好 HA 的最适用量后(详见结果部分 2.1 节),从第 85d 起(即本研究的第 0d)正式开展实验.

实验装置总高度为 100cm,内径 10cm,高径比为 7,有效体积为 5.5L.通过自动控制装置对蠕动泵、曝

气泵、电磁阀的开关进行控制,实现进水、曝气、排水过程自动化,曝气量由转子流量计控制,在反应器底部放置圈状纳米曝气管以保证曝气均匀。

反应器采用缺氧/好氧交替运行的周期循环模式,运行周期为 4h,包括进水 8min,厌氧 60min,曝气 161~169min,沉降 2~10min,排水 1min.反应器体积交换比为 50%,表观气速为 2.5cm/s,曝气段溶解氧控制为 7.0~7.5mg/L。

实验采用人工配制的模拟生活污水作为反应器进水,其水质组成详见表 1.实验所用纳米材料(G 和 GO)购自苏州碳丰石墨烯科技有限公司.投加时为防止其聚集,将 G 和 GO 悬浮于合成污水中,并在

250W,40kHz 的条件下超声处理 30min。

表 1 模拟生活污水组成成分

Table 1 Composition of the simulated municipal wastewater

主要化合物组成	浓度	微量元素 ^a 化合物组成	浓度 (mg/L)
CH ₃ COONa	600.0mg COD/L	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	50.0
NH ₄ Cl	60.0mg N/L	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	60.0
K ₂ HPO ₄ ·KH ₂ PO ₄	10.0mg P/L	CoCl ₂ ·6H ₂ O	60.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	25.0mg Mg ²⁺ /L	CuSO ₄ ·5H ₂ O	30.0
FeSO ₄ ·7H ₂ O	30.0mg Fe ²⁺ /L	MnCl ₂ ·4H ₂ O	100.0
CaCl ₂	30.0mg Ca ²⁺ /L	HBO ₃	50.0
微量元素 ^a	1.0mL/L	AlCl ₃	50.0
		NiCl ₂	40.0

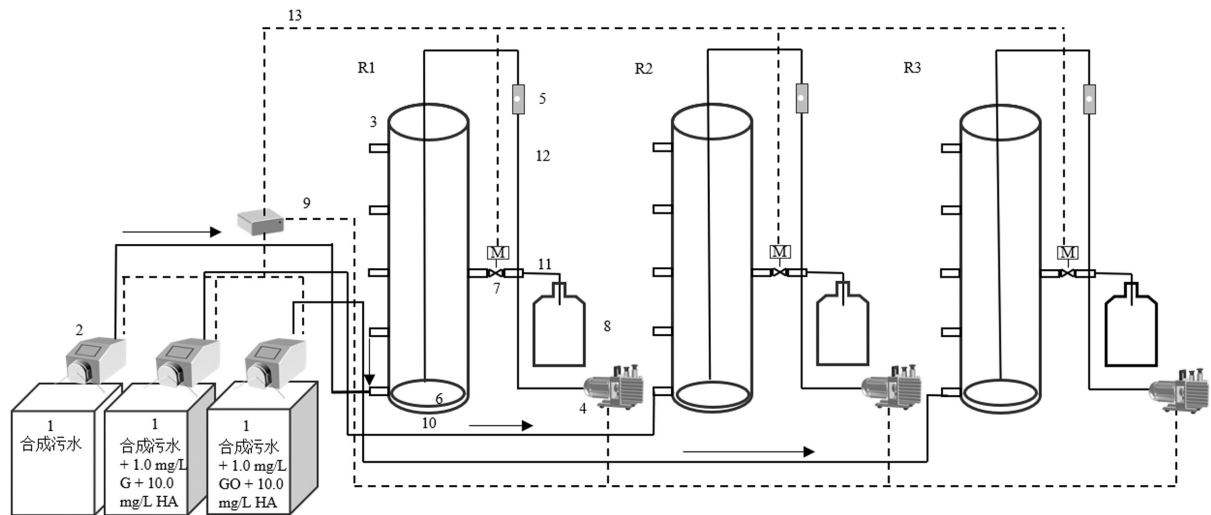


图 1 反应器装置示意

Fig.1 Reactor structure diagram

1.进水桶; 2.蠕动泵; 3.间歇式反应器; 4.曝气泵; 5.转子流量计; 6.曝气管; 7.电磁阀; 8.出水桶; 9.自动控制装置; 10.进水管; 11.出水管; 12.曝气管; 13.电子元件连接线

1.2 HA 投加浓度的确定

本研究通过批次实验确定 HA 的最佳用量,具体实验流程如下:在实验开始前,分别从反应器 R1、R2 和 R3 中取相同生物量(MLSS 均为 2.0g/L)的 AGS 混合液分别置于若干(13 个)体积相同的锥形瓶中.其中,对照组的接种污泥取自反应器 R1,实验组的接种污泥分别取自反应器 R2 和 R3(各 6 个).HA 溶液投加梯度设置为 0.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0mg/L,分别向接种反应器 R2 和 R3 污泥的锥形瓶中投加对应浓度的 HA 溶液.随后,将所有锥形瓶置于恒温振荡器中(25℃, 150r/min)持续培养 1h.培养结束后,测定不同锥形瓶中 AGS 内部微生物产生

ROS 的最终含量,其结果以相对于对照组锥形瓶中 ROS 含量的比值百分数进行表示.最终,将批次实验中 ROS 含量降低最明显、用量最合理的 HA 投加浓度作为反应器 R2 和 R3 中 HA 的最佳投加量.此外,为确保反应器 R2 和 R3 中 HA 的持续投加,本次研究在人工配水阶段向模拟生活污水中投加相应浓度的 HA 溶液,使其随反应器进水一同进入系统中。

1.3 分析指标与方法

MLSS、SVI₃₀、COD、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 等指标按照标准方法进行测定^[18].污泥微观形态采用扫描电子显微镜(SEM, ZEISS Gemini 300,德国)观察.污泥粒径分布采用 Malvern 3000 激光粒度仪

分析.

根据文献中描述的方法^[19]提取污泥中的紧密结合型胞外聚合物(TB-EPS)和松散结合型胞外聚合物(LB-EPS).主要步骤为:取适量体积的污泥混合液, 4000r/min 离心 10min,随后加入 70 °C 的质量比为 0.05% 的 NaCl 溶液进行离心,上清液即为 LB-EPS,剩余污泥再次用 0.05% 的 NaCl 溶液补充至原体积,水浴加热 30min 后离心取上清液为 TB-EPS. EPS 样品中蛋白质(PN)和多糖(PS)的含量分别采用 BCA 试剂盒(Sigma-Aldrich)和苯酚-硫酸法进行测定^[20].采用三维荧光光谱仪(FP-6500,日本 JASCO 公司)记录 EPS 样品的激发-发射矩阵光谱图(EEM)并分析 EPS 中荧光类物质的组成成分.由于 EPS 的组成成分复杂,荧光光谱会发生严重重叠^[21].本研究采用平行因子分析法(PARAFAC)将 EEM 荧光光谱图分离为独立的荧光组分,以消除数据叠加带来的影响,详细分析方法见余华荣等^[22]的研究.

活性氧(ROS)含量、乳酸脱氢酶(LDH)活性、过氧化氢酶(CAT)活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性根据文献中报道的研究方法进行测定^[11].

采用 Zeta 电位表征 HA 调控前后 G 和 GO 表面电势的变化情况,具体流程如下:取 10mL G 和 GO 的悬浮液,采用 0.1mol/L NaCl 溶液将悬浮液稀释至 OD₅₄₆ 为 0.1,采用 Zeta 电位仪(Zetarsizer Nano ZS90)分析测定样品的 Zeta 电位.

本研究中分析测试重复 3 次,采用单因素方差分析(ANOVA)检验结果的显著性($P < 0.05$).采用 SPSS 软件进行统计学分析(IBM SPSS 统计软件 26.0).

2 结果与讨论

2.1 HA 最佳用量

如图 2 所示,投加低浓度 HA (5.0mg/L)对实验组 R2 和 R3 中 ROS 的相对含量未产生显著影响($P > 0.05$);当 HA 投加浓度为 10.0mg/L 时,实验组 R2 和 R3 中 ROS 的相对含量显著降低($P < 0.05$),其比值百分数分别为对照组 R1 的 112.9%和 111.2%;随着 HA 投加浓度增加(20.0~50.0mg/L),实验组 R2 中 ROS 的相对含量持续下降,但实验组 R3 中 ROS 的相对含量并未发生明显改变($P > 0.05$);特别地,当 HA 投加浓度为 100.0mg/L 时,尽管实验组 R2 中 ROS 的含量为对

照组 R1 的 85.4%,但实验组 R3 中 ROS 的含量相对于 R1 的比值百分数却达到了 123.4%,并未产生显著的缓解效果.

如上所述,综合考虑试验结果和试剂成本,本研究 HA 最佳用量为 10.0mg/L.

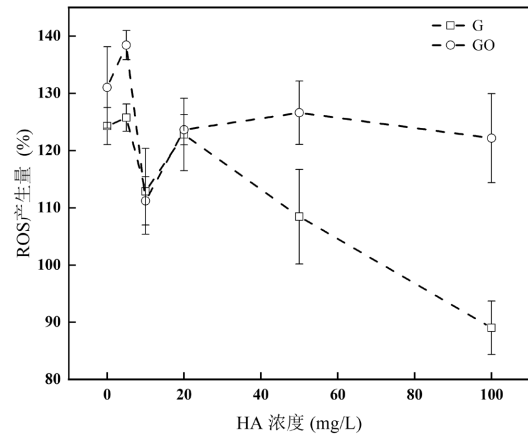


图 2 不同 HA 浓度下 R2 和 R3 相对于 R1 中 ROS 含量的比值百分数

Fig.2 The percentage ratio of ROS content in R2 and R3 relative to R1 at different HA concentrations

2.2 污泥理化特性分析

实验开始前,经过 G 和 GO 的持续暴露(85d), AGS 的理化特性出现明显恶化,实验初期(第 0d),相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 中 AGS 的沉降性能(SVI₃₀)和平均粒径明显降低,按数值大小排序分别为:R3(74.1mL/g)>R2(65.9mL/g)>R1(57.9mL/g)和 R1(1488.0 μ m)>R2(1313.0 μ m)>R3(1224.1 μ m).为探究 HA 能否缓解上述负面影响,本研究在投加 10.0mg/L HA 后,对三组反应器中 AGS 的沉降性能(SVI₃₀)、生物量(MLSS)以及平均粒径的变化情况进行分析(图 3(a-c)).

如图 3(a)所示,实验初期(0~40d),三组反应器中的 SVI₃₀ 均呈现出持续下降的变化趋势.至第 40d,三组反应器的 SVI₃₀ 按数值大小排序有:R1 (58.8mL/g) > R3 (45.0mL/g) > R2 (32.4mL/g).其中,R2 和 R3 系统内 AGS 的 SVI₃₀ 由第 0d 的 65.9 和 74.1mL/g 分别下降至 32.4 和 45.0mL/g.与此同时(0~40d),随着污泥沉降性能的提升,三组反应器的生物量也均呈现出持续上升的变化趋势(图 3(b)).其 MLSS 含量按平均值大小排序有:R3(3.8g/L)>R2(2.7g/L)>R1(2.4g/L).分析认为,HA 作为一种外源性有机物,其投加可为

实验组 R2 和 R3 提供碳源,从而促进异养微生物的生长,使其相较于对照组 R1 获得了更高的生物量。随着生物量的不断增加,最终在选择压的驱动下,R2 和 R3 系统内污泥沉降性能也得到了提升。之后,R2 和 R3 系统内的 MLSS 含量开始下降,且从第 50d 起,实验组 R2 和 R3 中 MLSS 含量均小于对照组 R1。分析认为,HA 含有大量的活性官能团,如醇

羟基、酚羟基和羧基等,可以通过氢键和静电引力与 G 和 GO 产生吸附作用^[15],从而阻碍 G 和 GO 与细菌的直接接触,减少了微生物在 G 和 GO 表面的附着位点和生长空间,使得相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 中 MLSS 含量均出现明显下降。最终,生物量的减少导致反应器内的 SVI₃₀ 也均呈现出上升趋势(图 3(a))。

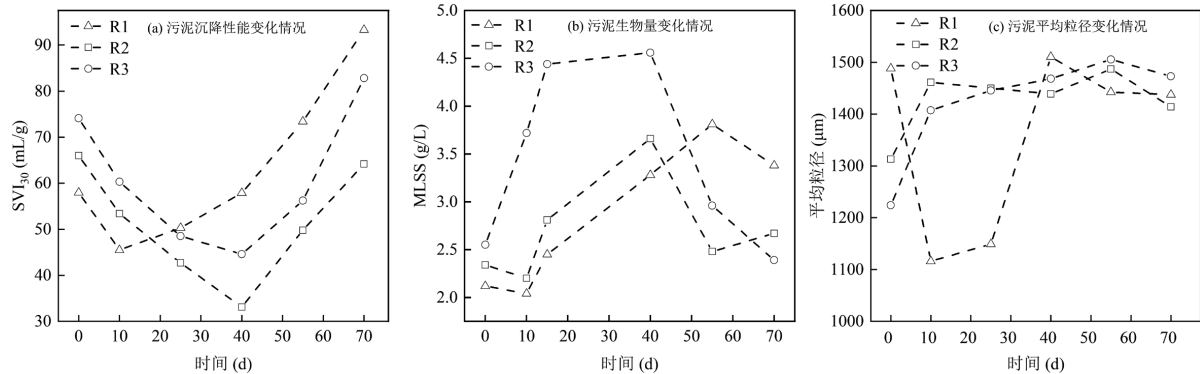


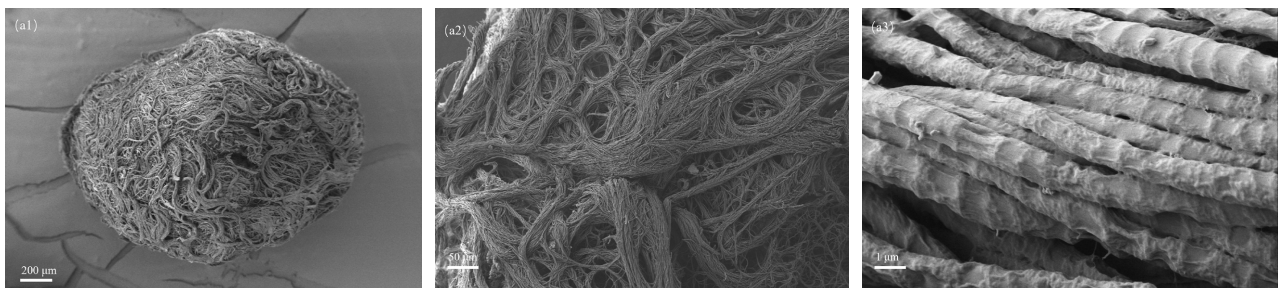
图 3 三组反应器运行过程中颗粒污泥理化特性的变化情况

Fig.3 Changes of physicochemical properties of the granular sludge during operation of three reactors

整个实验期间,R2 和 R3 系统内的 AGS 平均粒径均呈现出先上升随后趋于稳定的变化趋势(图 3(c)).相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 更加优异的沉降性能使其仅在第 10d 即可获得较大的粒径。其中,R3 系统内的 AGS 平均粒径由 1224.1 μm 增加至 1407.5 μm ,R2 系统内的 AGS 平均粒径由 1313.0 μm 增加至 1461.3 μm ,随后二者均保持在(1455.2 \pm 30.6) μm 之间。

本研究采用 SEM 进一步观察实验末期(第 75d)三组反应器中 AGS 微观形态的变化情况。如图 4 所示,三组反应器中的 AGS 均呈现出较为光滑且规则的颗粒状结构。相较于 R1 中大量生长繁殖的丝状菌,R2 中 AGS 表面附着的丝状菌则较为稀疏,且相互缠绕构成了 AGS 的骨架结构,这为细菌的生长提供了更多的附着位点^[23],同时,大量杆状菌附着在丝

状菌表面,使得污泥结构更加致密紧凑;R3 中 AGS 表面稀疏附着的丝状菌则被微生物分泌的 EPS 紧密包裹在 AGS 表面,有利于提高颗粒结构的稳定性^[24]。根据 SEM 的结果以及上述污泥理化特性变化的情况,表明,相较于对照组 R1,经过 G 和 HA 以及 GO 和 HA 的持续作用,实验组 R2 和 R3 中获得了更加规则、致密的 AGS。Zhang 等^[11]在有关 G 和 GO 对 AGS 系统影响的研究中报道,G (1.0mg/L)或 GO (1.0mg/L)的长期胁迫会促使 AGS 表面生长大量的丝状菌,导致反应器中 AGS 的沉降性能恶化。然而,本次研究结果显示,相较于对照组 R1,投加 HA 的实验组 R2 和 R3 中 AGS 表面丝状菌的分布明显较为稀疏。因此,投加 HA 能够对受 G 和 GO 胁迫作用的 AGS 系统产生一定的积极作用。



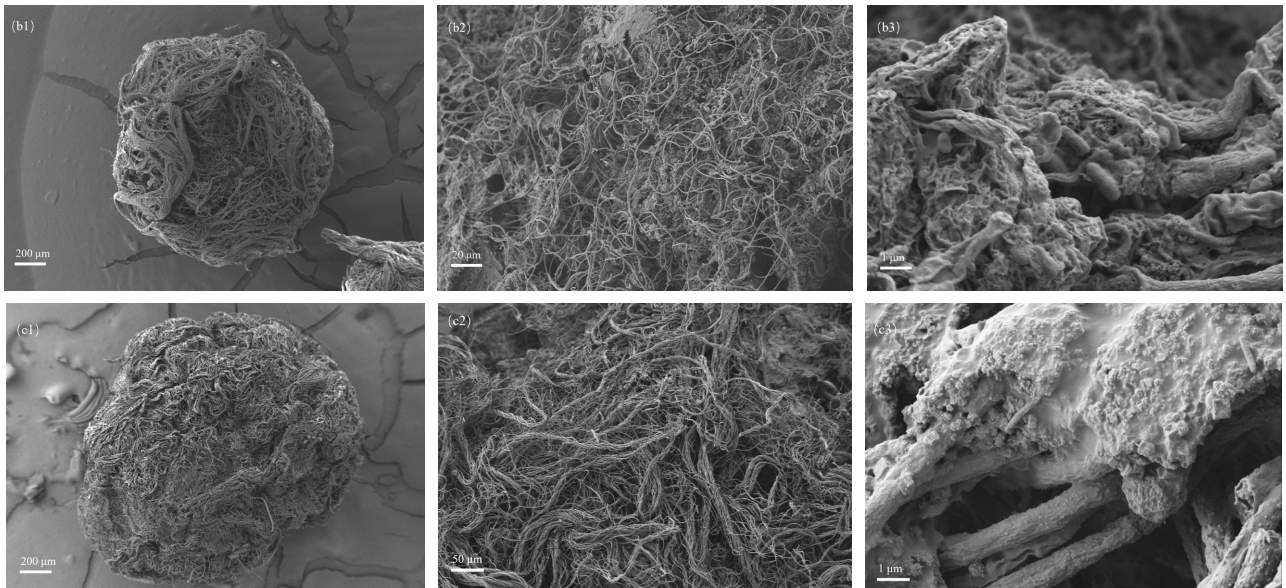


图4 第75d 三组反应器中 AGS 样品的 SEM 图像

Fig.4 SEM images of AGS samples in three groups of reactors on day 75

R1: (a1~a3); R2: (b1~b3); R3: (c1~c3)

2.3 污染物的去除效能分析

2.3.1 含氮化合物的去除率 由图 5(a~c)可知,三组反应器中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率均达到了 100.0%,并且出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度均低于 1.0mg/L.之前的研究报道,在 1.0mg/L G 和 GO 持续 95d 的胁迫作用下,反应器内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率均稳定在 100.0% 左右,未受到有毒污染物影响^[11].以上结果说明投加适量 HA 不会对 AGS 系统的硝化反应过程产生不利影响.三组反应器中出水以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为主,其平均浓度分别为 22.3 (R1)、21.9 (R2)和 25.1mg/L (R3).特别地,在 R3 系统内,相较于实验初期(第 0d) $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的出水浓度(30.0mg/L),在实验末期(第 75d),其出水浓度降低至 24.9mg/L.分析认为,投加 HA 提

高了 R3 系统内进水 COD 浓度 (图 6),较高的碳源有利于提升 AGS 的反硝化能力^[25],从而增强了 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率.

在 TN 去除率方面,对照组 R1 中的 TN 去除率始终稳定在 58.0%~64.0%.实验初期(第 0~20d),实验组 R2 和 R3 中的 TN 去除率明显升高,随后稳定维持在 60.0% (R2)和 58.0% (R3)附近.相较于 R2 和 R3 系统内第 0d TN 的去除率,投加 HA 后,其去除率由 60.0% (R2)和 50.4% (R3)分别提高至 62.3%和 58.0%.结合 2.2 节的研究结果,分析认为,投加 HA 使得 AGS 理化特性明显上升.其中,AGS 平均粒径的增加有助于 AGS 内部厌氧/缺氧区域的分层更加明显,从而提升了 TN 的去除率^[26].

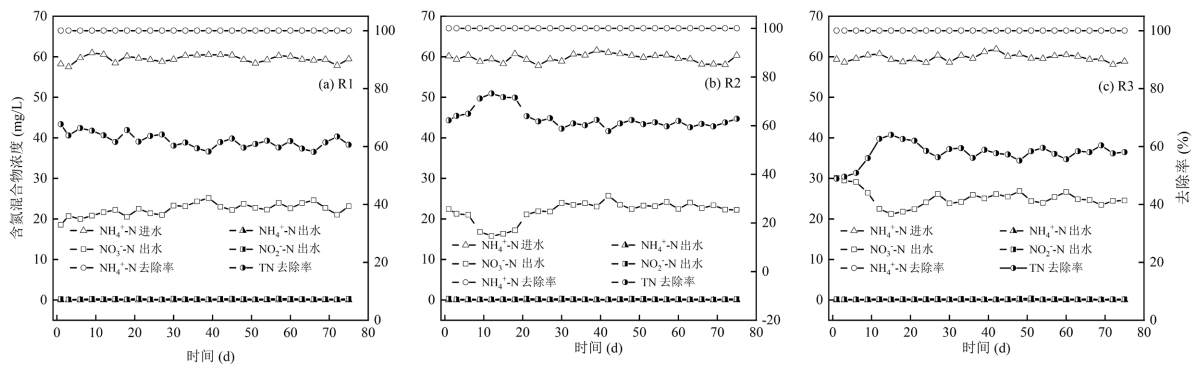


图5 三组反应器运行期间进水氮、出水氮浓度和总氮去除率的变化情况

Fig.5 Changes in influent nitrogen concentration, effluent nitrogen concentration and total nitrogen removal efficiencies during 75 days of operation

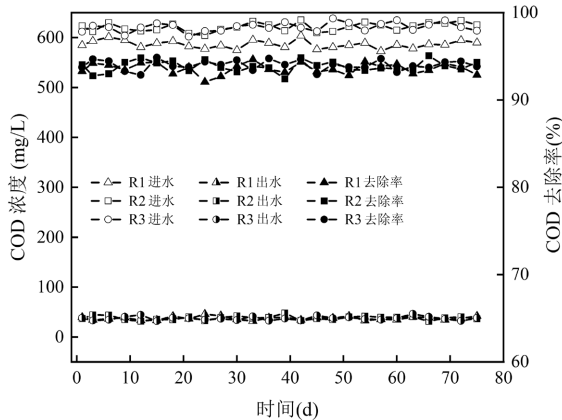


图 6 三组反应器运行期间 COD 去除率的变化情况

Fig.6 COD removal efficiencies during the 75-day operation of the three reactors

2.3.2 COD 的去除率 Zhang 等^[11]研究结果报道, 1.0mg/L G 和 GO 的持续暴露(95d)对 AGS 反应器中 COD 的去除率未产生影响.类似地,在本研究中,尽管 HA 作为一种含碳有机物,其引入反应器后会导致 R2 和 R3 系统内进水 COD 浓度有所提高,但是三组反应器中 COD 的去除率始终稳定维持在 92.0%~ 95.0%, 未产生显著差异($P>0.05$) (图 6).结合 AGS 理化特性方面的变化情况(图 3(b-c)),分析认为相较于对照组 R1(平均粒径为 1330.8 μm),实验组 R2 和 R3 中的 AGS 具有更大的污泥粒径(R2 和 R3 平均粒径分别为

1450.1 和 1460.2 μm)以及更多的生物量(R1、R2 以及 R3 在反应器进行期间平均生物量分别为: 2.2、2.7 和 3.6g/L) (图 4).因此,这些结果表明相较于对照组 R1, 实验组 R2 和实验组 R3 中的 AGS 可能具有更加丰富的微生物群落,使得其呈现出优良的 COD 去除率.

2.4 活性氧含量和抗氧化酶活性的变化

如图 7(a)所示,经过 G 和 GO 的长期胁迫, R2 和 R3 系统内的 ROS 含量相较于 R1,其比值百分数分别上升了 48.9%和 66.2%(第 0d).这说明 G 和 GO 的长期存在会导致 AGS 微生物积累大量的 ROS. Huang 等^[27]研究报道,随着生物体内 ROS 的积累,其产生的超氧阴离子和含氧自由基会导致微生物氧化应激水平显著上升,从而对微生物的正常生理功能产生严重影响.然而,投加适量 HA 后,整个实验期间 R2 和 R3 系统内的 ROS 平均含量分别为对照组 R1 的 94.3%和 95.0%.相较于实验组 R2 和 R3 中第 0d 时微生物体内 ROS 的含量,实验末期(第 75d),R2 和 R3 中微生物体内产生的 ROS 含量分别下降了 47.0%和 76.0%.这些结果表明投加适量 HA 可以显著降低 AGS 微生物体内积累的 ROS 含量($P<0.05$).结合 Zhao 等^[15]研究结果,分析认为 HA 作为一种抗氧化剂可以与细胞内产生的 ROS 相结合,通过减少 ROS 在细胞内的积累,进一步缓解 G 和 GO 对 AGS 微生物造成的毒性影响.

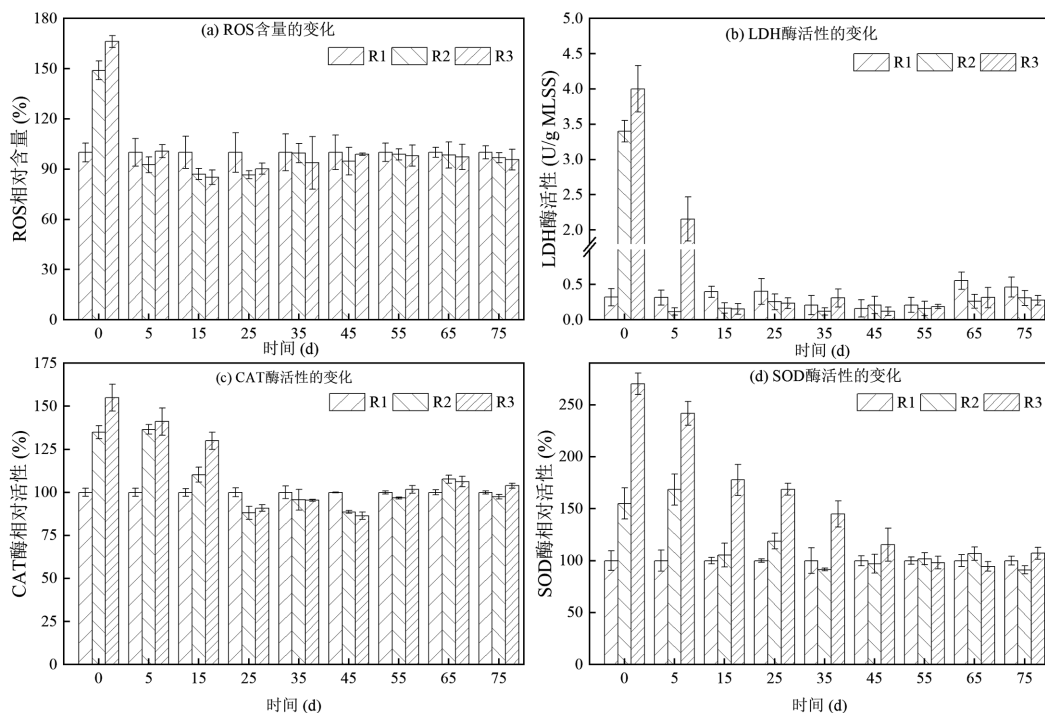


图 7 反应器运行过程中 ROS 含量和抗氧化酶活性的变化情况

Fig.7 Changes of ROS content and antioxidant enzymes activities in R1-R3 reactor during operation

如图 7(b)所示,作为一种反映细胞膜完整性的指标^[28],实验组 R2 和 R3 中 LDH 酶的活性从第 15d 起恢复至较低水平($<0.5\text{U/g MLSS}$),此后稳定在 $0.11\sim 0.32\text{U/g MLSS}$ 之间.相较于实验初期(第 0d) AGS 中 LDH 酶的活性(R2 为 3.38U/g MLSS ,R3 为 4.0U/g MLSS),投加适量 HA 后,其活性产生了显著差异($P<0.05$). Zhang 等^[11]研究表明,在 G 和 GO 的长期胁迫下(95d),AGS 内部微生物的细胞膜受到严重损害,导致反应器脱氮性能受到抑制.然而,本次研究通过投加适量浓度的 HA 显著降低了 G 和 GO 对 AGS 微生物细胞膜产生的不利影响(图 7(b)),使得实验组 R2 和 R3 的 TN 去除率相较于实验初期(第 0d)分别提升了 2.3%和 7.6%.以上结果说明,通过投加适量 HA 减少了 AGS 微生物体内 ROS 的含量,AGS 微生物中细胞生物膜受到活性氧物质的胁迫也得到了缓解,从而使 LDH 酶在后续实验过程中表现出较低的活性,最终使得 AGS 反应器的污染物去除性能得到改善.

CAT 酶和 SOD 酶是生物体内抵抗氧化应激的重要防御系统^[29-30].其中,SOD 酶在将超氧自由基转化为过氧化氢的过程中发挥重要作用^[31],而 CAT 酶则可将其产生的过氧化氢进一步代谢为分子氧和水^[32].与 ROS 含量的变化情况类似(图 7(a)),从第 0d 起,相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 中 CAT 酶和 SOD 酶的相对活性也在整个反应器运行期间呈现出先下降后保持稳定($100.0\%\pm 18.8\%$)的变化趋势(图 7(c-d)).这表明通过 HA 与 AGS 微生物体内的 ROS 相结合,有效避免了因 AGS 微生物氧化应激水平上升而对生物膜产生的不利影响^[27],有助于维持微生物正常的生理功能,进而提升了 AGS 的理化特性和处理性能.

2.5 胞外聚合物的含量与组成

2.5.1 胞外聚合物含量的变化

EPS 主要来源于细胞分泌、细胞代谢、细胞死亡以及废水中吸附的有机物,AGS 分泌大量 EPS 对保护 AGS 微生物免受外部有毒污染物的毒害作用至关重要^[33].如图 8(a)所示,实验初期(第 0~35d),对照组 R1 中总 EPS 含量相对稳定,保持在 $90.6\sim 103.2\text{mg/g MLSS}$,而投加 HA 的实验组 R2 和 R3 中总 EPS 含量呈现出明显下降的变化趋势.其中,R2 系统内的总 EPS 含量从 101.4mg/g MLSS 降至 73.6mg/g MLSS ,R3 系统内的总 EPS 含量从 130.1mg/g MLSS 降至 73.9mg/g

MLSS. Zhang 等^[11]研究报道,经过 1.0mg/L G 和 GO 持续 95d 的胁迫作用后,AGS 系统内的总 EPS 含量相较于实验初期(第 0d)分别上升了 20.0mg/g MLSS 和 27.8mg/g MLSS .结合前述 AGS 微生物氧化应激水平的变化情况(详见 2.4 节),分析认为,通过投加适量浓度的 HA,AGS 微生物的氧化应激水平明显降低,这说明 HA 有效缓解了 G 和 GO 对 AGS 产生的胁迫作用,使得 AGS 无需分泌过量的 EPS 即可抵御 G 和 GO 产生的毒性影响.从第 35d 起,对照组 R1 中 EPS 含量出现明显降低,而实验组 R2 和 R3 中的 EPS 含量保持相对稳定.直至实验结束(第 75d),三组反应器中总 EPS 含量分别为 75.8 (R1), 65.0 (R2)和 79.9mg/g MLSS (R3),期间未出现显著差异($P>0.05$).结合三组反应器均呈现出优异的 COD 去除率($>90.0\%$),分析认为相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 中更高浓度的进水 COD,使其系统内的 AGS 微生物具有更加充足的营养物质来源以维持 EPS 含量的相对稳定^[30].

三组反应器中,LB-EPS 含量相对稳定,TB-EPS 是总 EPS 含量中的主要成分(图 8(a-c)).特别是在实验初期(第 0~35d),R2 和 R3 系统内的 TB-PN 含量出现明显的下降趋势,分别从 57.9 和 78.2mg/g MLSS 降至 42.1 和 43.5mg/g MLSS .之后(第 45~75d),三组反应器中 TB-PN 的含量均未产生明显变化.研究报道,在 G 和 GO 的影响下,AGS 会分泌大量的 PN 以抵御其对 AGS 产生的毒性影响^[11].结合本实验中 AGS 微观形态以及氧化应激水平的变化情况,分析认为,投加适量浓度的 HA 主要缓解了 AGS 对 TB-PN 的大量分泌.

2.5.2 胞外聚合物的荧光组分

采用三维荧光光谱(3D-EEM)对三组反应器中不同时期收集的 LB-EPS 和 TB-EPS 样品进行组分分析,结果如图 9 和 10 所示.提取的 EPS 样品中均存在两个吸收峰,分别是代表芳香族蛋白质物质的峰 A(E_x/E_m 为 $220\sim 230/300\sim 350\text{nm}$)^[34]和酪氨酸类物质的峰 B (E_x/E_m 为 $270\sim 280/300\sim 350\text{nm}$)^[35].这两种蛋白质作为颗粒污泥 EPS 的主要成分^[36],有利于 AGS 的形成和对有毒污染物的抵抗.研究表明,相较于实验初期(第 5d)AGS 样品中 EPS 的荧光强度,尽管投加 HA 使得实验组 R2 和 R3 中峰 A 和峰 B 发生了蓝移,但其代表的物质成分并未产生明显差异.这表明 HA 引入

后仅改变了 EPS 组分的含量,对 EPS 的主要组成不会产生影响.

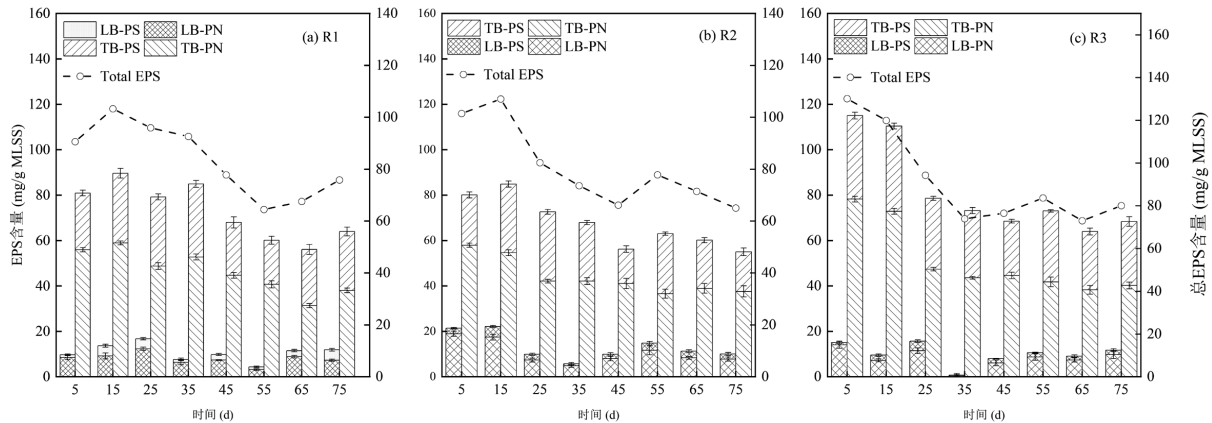


图 8 三组反应器运行期间 EPS 含量的变化

Fig.8 Variation of EPS content during 75-day reactor operation

由图 9 和图 10 可知,酪氨酸类物质峰 B 的荧光强度变化是导致样品荧光光谱发生改变的主要因素.整个实验期间(0~75d),相较于对照组 R1 中 LB-EPS 以及 TB-EPS 的酪氨酸类物质峰 B 的荧光强度,实验组 R2 和 R3 中 LB-EPS 和 TB-EPS 组分中酪氨酸类物质峰 B 的荧光强度明显逐渐减弱.Zhang 等^[32]研究报道,在 AGS 系统中,酪氨酸类物质的大量分泌对于抵抗有毒污染物的毒性影响发挥重要作用.结合 R2 和 R3 系统内 EPS 组分中 PN

整体含量的变化情况(图 8(b-c)),在 HA 投加前期(第 5d),由于 G 以及 GO 的长期毒性影响,相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 具有更高的初始 TB-PN 和 LB-PN 含量.随着 HA 的持续投加(第 0~35d),相较于 R1,实验组 R2 和 R3 中 PN 含量出现了明显降低(图 8).结合实验组 R2 和 R3 中 EPS 组分的酪氨酸类物质峰 B 荧光强度的减弱,这说明投加适量浓度的 HA 有效缓解了 G 和 GO 对 AGS 产生的胁迫作用,降低了 AGS 对酪氨酸类物质的大量分泌.

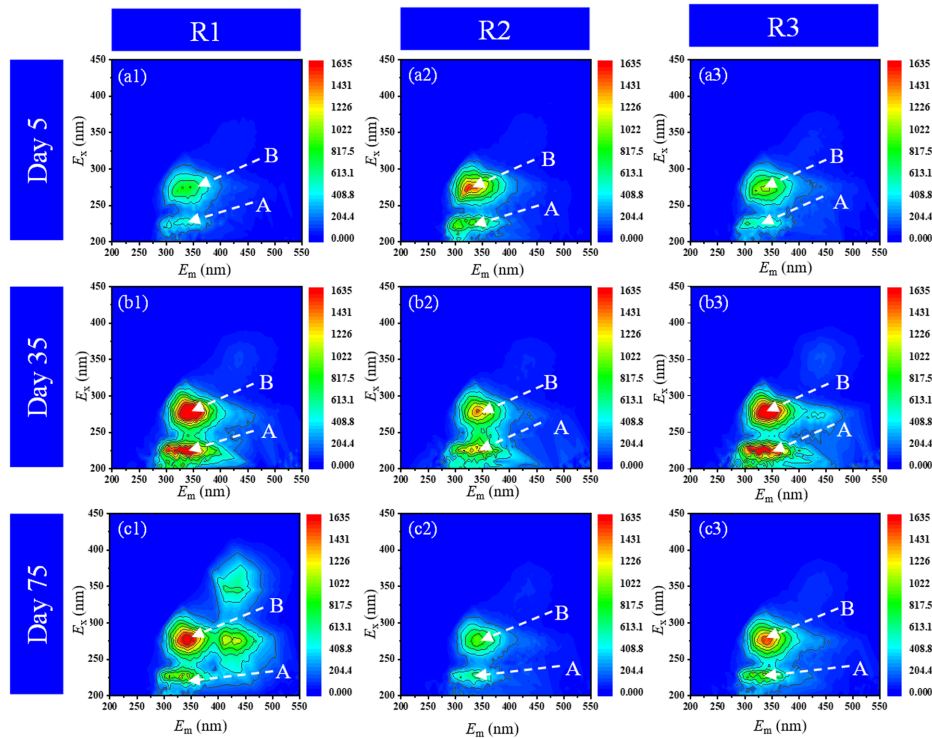


图 9 三组反应器在不同时期提取的 LB-EPS 的 3D-EEM 荧光光谱图

Fig.9 3D-EEM fluorescence spectra of LB-EPS extracted from three reactors at different periods

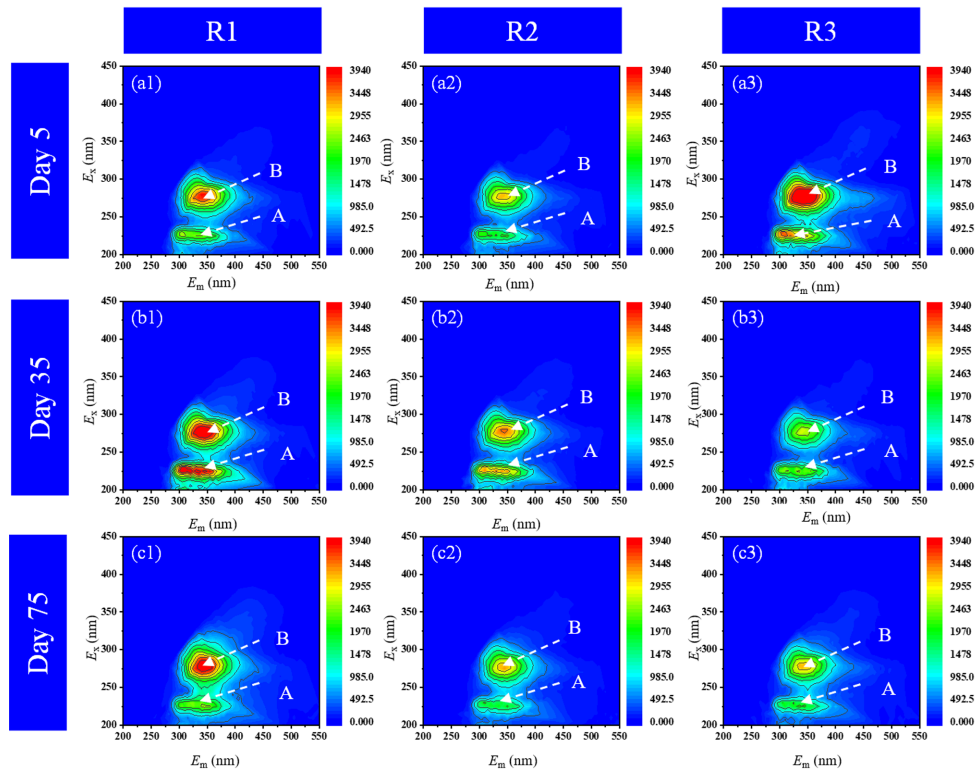


图 10 三组反应器在不同时期提取的 TB-EPS 的 3D-EEM 荧光光谱图

Fig.10 3D-EEM fluorescence spectra of TB-EPS extracted from three reactors at different periods

为了进一步揭示 EPS 样品的主要组成成分,基于 3D-EEM 荧光光谱分离出的独立组分具体组成详见表 2.组分 1、组分 2 和组分 3 的 E_x/E_m 峰值分别在 270~280/320~340nm、220~230/300~330nm 和 270~280/350~380nm 处,其分别表示酪氨酸、芳香族

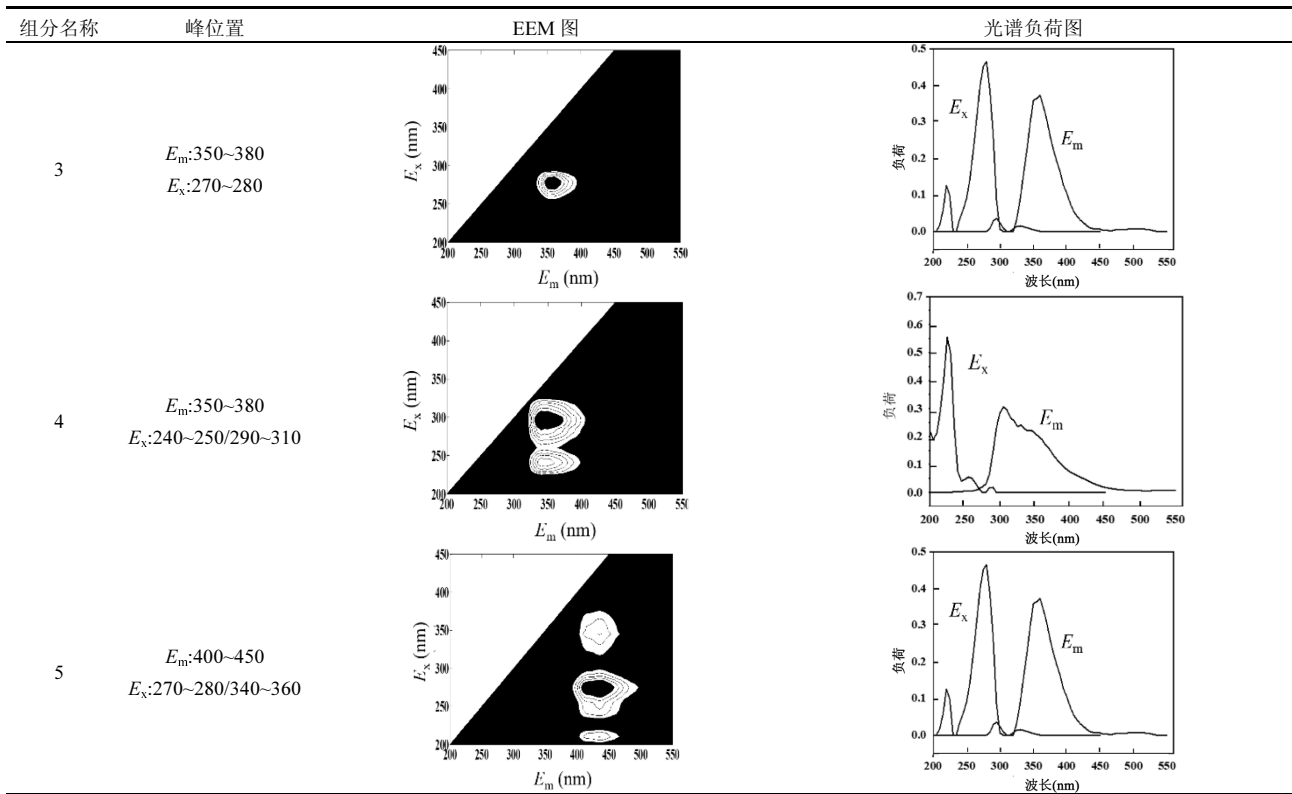
蛋白质和色氨酸^[37].组分 4 峰值 E_x/E_m 在 240~250/350~380nm 和 290~310/350~380nm 处,代表色氨酸和芳香类物质.组分 5 在 E_x/E_m 处具有 270~280/400~450nm 和 340~360/400~450nm 两个峰,代表腐殖酸和富里酸^[38].

表 2 三组反应器中 EPS 不同组分的组分名称、峰位置、对应的 EEM 图和光谱负荷图

Table 2 Component labels, EEM locations, representative EEMs and spectral loadings for reoccurring PARAFAC components

组分名称	峰位置	EEM 图	光谱负荷图
1	E_m :320~340 E_x :270~280		
2	E_m :300~330 E_x :220~230		

续表 2



反应器中污泥 EPS 组分的荧光强度值(FI)如图 11 所示.从第 5d 起,实验组 R2 和 R3 中组分 1 的荧光强度显著降低($P<0.05$).同时,从第 35d 起,实验组 R2 和 R3 中五种组分的荧光强度值均小于对照组 R1.这与前述酪氨酸类物质峰 B 的变化结果一致.对于组分 2、组分 3、组分 4 和组分 5 而言,其在三组反应器运行期

间均无显著差异($P>0.05$).通过分析投加适量 HA 后 AGS 中 EPS 含量与组成的变化情况,研究表明投加适量 HA 有效控制了 EPS 中 PN 组分的大量分泌,降低了 PN 组分中酪氨酸类物质的含量,结合这些物质在抵御有毒污染物过程中发挥的作用,进一步说明投加适量 HA 可以有效缓解 G 和 GO 对 AGS 产生的毒性影响.

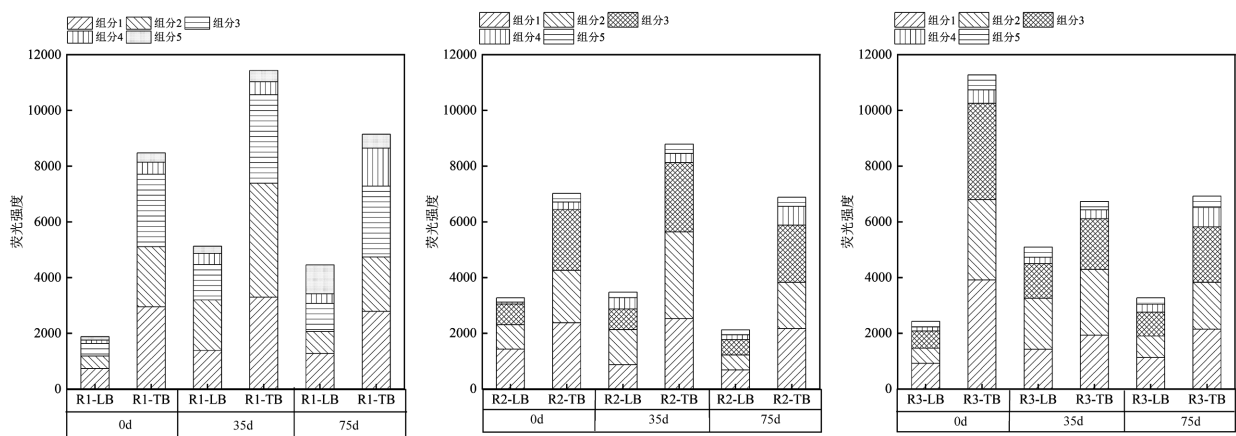


图 11 反应器 R1-R3 中由 PARAFAC 法识别的不同组分峰值强度变化情况

Fig.11 Peak intensity variations of the different components identified by PARAFAC in R1-R3

2.6 HA 调控机理分析

Zhang 等^[17]研究报道,HA 可以作为微生物和

GO 之间的物理屏障,避免微生物与纳米材料直接接触.因此,本实验对 HA 投加前后 G 和 GO 表面的 Zeta

电位变化情况进行了分析(表 3).数据显示 HA 投加后 G + HA 和 GO + HA 表现出比 G 和 GO 更高的电势值.这表明 HA 的投加可以通过增强 G 和 GO 所带的负电荷,增强了其与微生物之间的排斥作用,从而减少了 G 和 GO 与细胞之间的直接接触,降低了 G 和 GO 对 AGS 产生的毒性影响^[39].

根据 Zhang 等^[11]研究报道,在 AGS 系统中, G 和 GO 的长期胁迫(95d)使得 AGS 内部的微生物氧化应激水平显著上升,进而抑制了 AGS 反应器中 TN 的去除率.本研究在投加 HA 后,R2 和 R3 系统内 AGS 微生物中 ROS 含量下降,抗氧化酶活性降低,AGS 的颗粒粒径及沉降性能得到了明显改善.同时,相较于第 0d,在实验末期(第 75d),实验组 R2 和 R3 的 TN 去除率也分别提升了 2.3%和 7.6%.结合上述 HA 投加后 G 和 GO 表面 Zeta 电位的变化情况,分析认为投加适量浓度的 HA 后,G 和 GO 与微生物之间的排斥力作用得到增强,从而缓解了 G 和 GO 对 AGS 产生的胁迫作用.HA 与 AGS 微生物产生的 ROS 相结合进一步降低了 AGS 微生物氧化应激水平,减少了 AGS 对 EPS 相关组分的大量分泌.最终,在 HA 的调控作用下,AGS 的理化特性和反应器的处理性能得到了明显改善.

表 3 HA 投加前后 G 和 GO 的 Zeta 电位变化
Table 3 Zeta potential changes of nanomaterials G and GO before and after HA dosing

样品名称	G	G+HA	GO	GO+HA
Zeta 电位 (mV)	-14.63 ± 0.47	-16.67 ± 0.32	-11.67 ± 0.45	-14.47 ± 0.65

3 结论

3.1 投加适量浓度的 HA 改善了 AGS 系统内颗粒污泥的理化特性及反应器的运行性能.相较于对照组 R1,实验组 R2 和 R3 中 AGS 的沉降性能和颗粒粒径得到了明显提升.整个实验期间反应器 R1、R2 和 R3 中污泥平均粒径分别为 1330.8、1450.1 和 1460.2 μm .随着 AGS 理化特性的恢复,实验组 R2 和 R3 系统内 TN 的去除率分别提高了 2.3%和 7.6%.同时,研究结果表明适量投加 HA 不会对 AGS 系统的 COD 去除率产生不利影响.

3.2 HA 对 AGS 内部微生物的氧化应激水平具有

显著的缓解效果.在实验组 R2 和 R3 中,相较于第 0d AGS 微生物的 ROS 含量,适量投加 HA 后,其 ROS 水平分别下降了 47.0%和 76.0%.分析认为这是 HA 通过与 AGS 内部微生物体内产生的 ROS 相结合,进而降低了 AGS 微生物体内的氧化应激水平,进而减少了 LDH 酶、CAT 酶和 SOD 酶的活性,最终缓解了 G 和 GO 对 AGS 微生物产生的毒性影响.

3.3 HA 的投加缓解了污泥 TB-EPS 中酪氨酸类物质的大量分泌.结合污泥理化性能的恢复以及反应器性能的提升,这说明适量投加 HA 缓解了 G 和 GO 对 AGS 产生的负面影响,加强了 AGS 结构的稳定性,并且提高了反应器对 TN 的处理性能.

3.4 HA 的投加增强了 G 和 GO 表面的 Zeta 电势值,提高了 G 和 GO 表面的负电荷含量.结合 AGS 内部微生物氧化应激水平的缓解,分析认为这是 HA 的引入增强了 G 和 GO 与微生物之间的排斥作用,进而减少了其与细胞之间的直接接触,最终缓解了 G 和 GO 对 AGS 微生物造成的损伤.

参考文献:

- [1] Adav S S, Lee D J, Show K Y, et al. Aerobic granular sludge: recent advances [J]. *Biotechnol Advances*, 2008,26(5):411-423.
- [2] Nancharaiah Y V, Reddy G K K. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications [J]. *Bioresource Technology*, 2018,247:1128-1143.
- [3] Chen J, Yu Z, Cheng P, et al. Microbial synergy achieving simultaneous nitrification-denitrification (SND) in salt-tolerant aerobic granular sludge [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024,60:105138.
- [4] Peng T, Wang Y, Wang J, et al. Effect of different forms and components of EPS on sludge aggregation during granulation process of aerobic granular sludge [J]. *Chemosphere*, 2022,303:135116.
- [5] Barrios A C, Wang Y, Gilbertson L M, et al. Structure-property-toxicity relationships of graphene oxide: Role of surface chemistry on the mechanisms of interaction with bacteria [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019,53(24):14679-14687.
- [6] Han Y, Knightes C D, Bouchard D, et al. Simulating graphene oxide nanomaterial phototransformation and transport in surface water [J]. *Environmental Science: Nano*, 2019,6(1):180-194.
- [7] Priyadarshini S D, Manikandan S, Kiruthiga R, et al. Graphene oxide-based nanomaterials for the treatment of pollutants in the aquatic environment: Recent trends and perspectives-A review [J]. *Environmental Pollution*, 2022,306:119377.
- [8] Guo C, Wang Y, Luo Y, et al. Effect of graphene oxide on the bioactivities of nitrifying and denitrifying bacteria in aerobic granular sludge [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018,156:287-293.
- [9] Keller A A, Lazareva A. Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2014,1(1):65-70.

- [10] Kedves A, Sánta L, Balázs M, et al. Chronic responses of aerobic granules to the presence of graphene oxide in sequencing batch reactors [J]. *Journal of hazardous materials*, 2020,389:121905.
- [11] Zhang M, Fu G, Shi W, et al. Microbial response to the chronic toxicity effect of graphene and graphene oxide nanomaterials within aerobic granular sludge systems [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024: 135350.
- [12] Wei S, Li Z, Sun Y, et al. A comprehensive review on biomass humification: Recent advances in pathways, challenges, new applications, and perspectives [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2022,170:112984.
- [13] Yang F, Antonietti M. Artificial humic acids: sustainable materials against climate change [J]. *Advanced Science*, 2020,7(5):1902992.
- [14] Zashikhin A V, Suvorova O N. Properties of Gold-Bearing Humic Acids [J]. *Journal of Mining Science*, 2023,59(2):311-319.
- [15] Zhao J, Li Y, Cao X, et al. Humic acid mitigated toxicity of graphene-family materials to algae through reducing oxidative stress and heteroaggregation [J]. *Environmental Science-Nano*, 2019,6(6): 1909-1920.
- [16] Deng C, Gong J, Zeng G, et al. Graphene-cds nanocomposite inactivation performance toward escherichia coli in the presence of humic acid under visible light irradiation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016,284:41-53.
- [17] Zhang X, Sui M, Yan X, et al. Mitigation in the toxicity of graphene oxide nanosheets towards escherichia coli in the presence of humic acid [J]. *Environmental Science-Processes & Impacts*, 2016,18(6): 744-750.
- [18] 国家环境保护总局.《水和废水监测分析方法》编委会.水和废水监测分析方法(第四版) [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002. Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. Water and wastewater monitoring and analysis methods [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [19] Wang Z, Gao M, Wang Z, et al. Effect of salinity on extracellular polymeric substances of activated sludge from an anoxic-aerobic sequencing batch reactor [J]. *Chemosphere*, 2013,93(11):2789-2795.
- [20] Dubios M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956,28:250-256.
- [21] Bagtho S A, Sharma S K, Amy G L. Tracking natural organic matter (nom) in a drinking water treatment plant using fluorescence excitation-emission matrices and parafac [J]. *Water Research*, 2011, 45(2):797-809.
- [22] 余华荣.基于微生物群体感应猝灭的 MBR 膜污染控制研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2015. Yu H. Research on membrane fouling control in MBR based on microbial quorum quenching [D]. Harbin: Harbin institute of technology, 2015.
- [23] Kuo-Dahab W C, Stauch-White K, Butler C S, et al. Investigation of the fate and dynamics of extracellular polymeric substances (EPS) during sludge-based photogranulation under hydrostatic conditions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018,52(18):10462-10471.
- [24] Huang S, Zhang B, Cui F, et al. Mechanisms underlying the detrimental impact of micro (nano) plastics on the stability of aerobic granular sludge: Interactions between micro (nano) plastics and extracellular polymeric substances [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024:135512.
- [25] Lu C, Yuan C, Zhu T, et al. Effect of humic acid on the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (snap) process: Performance and bacterial communities [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021,9(6):106680.
- [26] Caluwé M, Dobbeleers T, D'aes J, et al. Formation of aerobic granular sludge during the treatment of petrochemical wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2017,238:559-567.
- [27] Huang B C, Li G F, Ren Z Q, et al. Light-Driven electron uptake from nonfermentative organic matter to expedite nitrogen dissimilation by chemolithotrophic anammox consortia [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023,57(34):12732-12740.
- [28] Li Y Q, Zhao B H, Zhang Y Q, et al. Insight into response mechanism of aerobic granular sludge to combined nanoparticle stress: Nitrogen removal, microbial community and heavy metal resistance genes [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024,496:154327.
- [29] Chen M, Yin J, Liang Y, et al. Oxidative stress and immunotoxicity induced by graphene oxide in zebrafish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 174:54-60.
- [30] Elahinik A, de Clercq F, Pabst M, et al. Effects of salinity on glycerol conversion and biological phosphorus removal by aerobic granular sludge [J]. *Water Research*, 2024,257:121737.
- [31] Meng F, Huang W, Liu D, et al. Application of aerobic granules-continuous flow reactor for saline wastewater treatment: Granular stability, lipid production and symbiotic relationship between bacteria and algae [J]. *Bioresource Technology*, 2020,295:122291.
- [32] Zhang B, Huang S, Wu L, et al. Micro (nano) plastic size and concentration co-differentiate the treatment performance and toxicity mechanism in aerobic granular sludge systems [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,457:141212.
- [33] He C, He P, Yang H, et al. Impact of zero-valent iron nanoparticles on the activity of anaerobic granular sludge: From macroscopic to microcosmic investigation [J]. *Water Research*, 2017,127:32-40.
- [34] Zhang L, Feng X, Zhu N, et al. Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007,41(5):551-557.
- [35] Chabalín Domínguez L, Pastor Rodríguez M, Prats, et al. Characterization of soluble and bound eps obtained from 2submerged membrane bioreactors by 3D-EEM and hpsec [J]. *Talanta*, 2013,115: 706-712.
- [36] Yin Y, Sun J, Liu F, et al. Effect of nitrogen deficiency on the stability of aerobic granular sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2018,275: 307-313.
- [37] Zhang M, Xu Y, Xiao K Q, et al. Characterising soil extracellular polymeric substances (EPS) by application of spectral-chemometrics and deconstruction of the extraction process [J]. *Chemical Geology*, 2023,618:121271.
- [38] Zhou M R, Qu J B, Li Peng, et al. The "Cluster-Regression" COD prediction model of distributed rural sewage based on three-dimensional fluorescence spectrum and ultraviolet-visible absorption spectrum [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2022,42 (7):2113-2119.
- [39] Chen Y, Ren C, Ouyang S, et al. Mitigation in multiple effects of graphene oxide toxicity in zebrafish embryogenesis driven by humic acid [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015,49(16):10147-10154.

作者简介: 张 明(2001-),男,甘肃陇南人,重庆大学硕士研究生,主要研究污水处理与资源化利用.发表论文 1 篇.2944494921@qq.com.